

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**ESCUELA DE POSGRADO**



**UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA  
EN CIENCIAS PECUARIAS**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**TESIS:**

**EFFECTIVIDAD DE LA REPRODUCCIÓN CON ESPERMATOZOIDES  
DE ACTIVACIÓN PROGRESIVA EN VACAS HOLSTEIN EN  
LAMBAYEQUE**

Para optar el Grado Académico de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MENCIÓN: DESARROLLO GANADERO**

Presentada por:

**LLEY MANUEL NERIO POMPA**

Asesor:

**Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN**

Cajamarca, Perú

**2023**

## CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador: Lley Manuel Nerio Pompa  
DNI: 44268900  
Escuela Profesional/Unidad de Posgrado de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Pecuarias.,  
Mención: Desarrollo Ganadero
2. Asesor(a):  
Dr. José Fernando Coronado León
3. Grado académico o título profesional  
 Bachiller       Título profesional       Segunda especialidad  
 Maestro      Doctor
4. Tipo de Investigación:  
 Tesis       Trabajo de investigación       Trabajo de suficiencia profesional  
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:  
Efectividad de la reproducción con espermatozoides de activación progresiva en vacas Holstein en Lambayeque.
6. Fecha de evaluación: Nov 16, 2023 5:14 PM GMT-5
7. Software antiplagio:  TURNITIN       URKUND (OURIGINAL) (\*)
8. Porcentaje de Informe de Similitud: 20. %
9. Código Documento: oid: 3117:287089011
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:  
 APROBADO       PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha Emisión: 18/06/23

*Firma y/o Sello  
Emisor Constancia*



**Dr. José Fernando Coronado León**  
DNI: 26619633

\* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

COPYRIGHT © 2023 by  
**LLEY MANUEL NERIO POMPA**  
Todos los derechos reservados



**Universidad Nacional de Cajamarca**  
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD  
**Escuela de Posgrado**  
CAJAMARCA - PERÚ



**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Siendo las 16:30 horas, del día 18 de mayo de dos mil veintitrés, reunidos en el Auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **Dr. ÁNGEL FRANCISCO DÁVILA ROJAS**, **Dr. LUIS ASUNCIÓN VALLEJOS FERNÁNDEZ** **Dr. EDUARDO ALBERTO TAPIA ACOSTA**, y en calidad de Asesor al **Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN**, actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestría de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada **"EFECTIVIDAD DE LA REPRODUCCIÓN CON ESPERMATOZOIDES DE ACTIVACIÓN PROGRESIVA EN VACAS HOLSTEIN EN LAMBAYEQUE"**, presentada por el **Bachiller en Medicina Veterinaria LLEY MANUEL NERIO POMPA**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó aprobar con la calificación de aprobado la mencionada Tesis; en tal virtud, el **Bachiller en Medicina Veterinaria LLEY MANUEL NERIO POMPA**, está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Pecuarias, con Mención en Desarrollo Ganadero.

Siendo las 18:40 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.

  
.....  
**Dr. José Fernando Coronado León**  
Asesor

  
.....  
**Dr. Ángel Francisco Dávila Rojas**  
Jurado Evaluador

  
.....  
**Dr. Luis Asunción Vallejos Fernández**  
Jurado Evaluador

  
.....  
**Dr. Eduardo Alberto Tapia Acosta**  
Jurado Evaluador

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo está dedicado:

A mis padres (Manuel Francisco Nerio Carrasco y Victoria Pompa Vásquez) por confiar en mi progreso, juntamente a mi esposa; M. V. Helen Anjelick Uceda Eneque e hijos (Mathías, Manuel y Bruno Guillermo Nerio Uceda) que siempre me han ayudado y apoyado en todo mi producto.

A mis hijos y mis sobrinos que son el futuro de mi familia ya que ellos deben tener presente que la mejor herramienta para el progreso es el conocimiento.

También para todas las personas especiales que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, quisiera agradecer, a mi tutor y a mí coasesor por haberme orientado en todos los momentos que necesité sus consejos.

Un especial agradecimiento al **Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN** por su gran aporte en la estructura de este trabajo y sobre todo por el gran e interesante apoyo en hacer investigación y como muestra de su profesionalismo la gran capacidad que tiene para poder hacer posibles trabajos de este nivel y también agradecido por el acopio de bibliografía especializada en el tema de la presente investigación.

Así mismo, deseo expresar mi reconocimiento a la institución donde realice mis estudios y al comité central del mismo por todas las atenciones e información brindada a lo largo de esta indagación y hoy, ya culminado, pueda obtener el grado de magister.

# ÍNDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE GENERAL .....</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS .....</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiv</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>Objetivo General: .....</b>	<b>4</b>
<b>Objetivos Específicos:.....</b>	<b>4</b>
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Antecedentes.....</b>	<b>5</b>
2.1.1. Antecedentes Históricos .....	5
2.1.2. Antecedentes Internacionales. ....	9
2.1.3. Antecedentes Nacionales .....	14
<b>2.2. Tasa de Preñez en vacas lecheras .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3. Número de servicios por concepción .....</b>	<b>15</b>
<b>2.4. Días Abiertos.....</b>	<b>16</b>
<b>2.5. Inseminación Artificial y Tratamiento del Semen .....</b>	<b>18</b>

<b>2.6. Indicadores Reproductivos.....</b>	<b>25</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Tipo y Diseño de Investigación.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2. Localización .....</b>	<b>27</b>
<b>3.3. Tratamientos.....</b>	<b>27</b>
<b>3.4. Alimentación, Manejo e Instalaciones.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5. Técnicas Experimentales .....</b>	<b>28</b>
<b>3.6. Parámetros Evaluados.....</b>	<b>29</b>
<b>3.7. Análisis Estadístico .....</b>	<b>30</b>
<b>3.8. Aspectos Éticos.....</b>	<b>31</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein mediante el uso de semen de microencapsulación para Activación progresiva y convencional. ....</b>	<b>32</b>
<b>4.2. Servicios por preñez en vacas Holstein mediante el uso de semen de microencapsulación para liberación de activación progresiva y convencional .....</b>	<b>33</b>
<b>4.3 Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, según el número de servicios con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional. ....</b>	<b>35</b>
<b>4.3.1. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, al primer servicio con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional.....</b>	<b>35</b>

4.3.2. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, al segundo servicio con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional.....	36
4.3.3. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, al Tercer servicio con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional.....	37
<b>4.3. Días abiertos al servicio de las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional .....</b>	<b>37</b>
<b>4.4. Número de partos de las Vacas Holstein preñada con semen de activación progresiva y convencional.....</b>	<b>40</b>
<b>4.5. Efectividad en vacas Holstein, preñadas y vacías, según el semen del toro utilizado en la activación progresiva y convencional .....</b>	<b>41</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>53</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Preñez y tasa de concepción de vacas Holstein servidas con semen de activación progresiva y convencional.....	32
Tabla 2: Servicios por preñez en vacas Holstein, mediante el uso de semen de activación progresiva y convencional.....	33
Tabla 3: Preñez y tasa de preñez en vacas Holstein al primer servicio con semen de activación progresiva y convencional.....	35
Tabla 4: Preñez y tasa de preñez en vacas Holstein al primer servicio con semen de activación progresiva y convencional.....	36
Tabla 5: Preñez y tasa de preñez en vacas Holstein al tercer servicio con semen de activación progresiva y convencional.....	37
Tabla 6 : Días abiertos de las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional .....	37
Tabla 7: Efecto del número de partos de las vacas Holstein que fueron preñadas con semen de activación progresiva y convencional.....	40
Tabla 8: Efectividad en vacas preñadas y vacías según el toro utilizado en la activación progresiva y convencional.....	41

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Prueba de chi-cuadrado de preñez entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional. ....	53
Anexo 2: Prueba e IC para dos proporciones de la tasa de concepción entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.....	53
Anexo 3: Prueba de normalidad del número de servicios por preñez entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.....	54
Anexo 4: Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes del número de servicios por preñez entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.....	54
Anexo 5: Prueba de chi-cuadrado entre vacas Holstein al primer servicio, inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.....	55
Anexo 6: Prueba e IC para dos proporciones de la tasa concepción al primer servicio, entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.....	56
Anexo 7: Prueba de chi-cuadrado entre vacas Holstein al segundo servicio, inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.....	57

Anexo 8: Prueba e IC para dos proporciones de la tasa de concepción para dos servicios entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional .....	57
Anexo 9: Normalidad de Días Abiertos entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional .....	58
Anexo 10: Prueba de U de Mann-Whitney de muestras independientes de Días Abiertos entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional .....	59
Anexo 11: Prueba de chi-cuadrado entre vacas Holstein según el número de partos (1 a 2 partos y más de 3 partos) inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional .....	60
Anexo 12: Prueba de chi-cuadrado con vacas Holstein según el toro utilizado en la inseminación con semen de activación progresiva y con semen convencional ..	60
Anexo 13: Prueba de chi-cuadrado con vacas preñadas y no preñadas según el toro utilizado en la inseminación con semen de activación progresiva .....	61

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue determinar la efectividad de la reproducción con espermatozoides de activación progresiva en vacas Holstein en Lambayeque, esto debido a una serie de factores juegan un rol importante en la capacidad productiva y su eficiencia reproductiva. Lográndose una inadecuada tasa de preñez con un mayor número de servicios por concepción. Una técnica relativamente nueva, en la que el semen tratado mediante una microencapsulación de activación progresiva permite servir a las vacas sin el protocolo convencional de inseminación artificial. Por lo que, se implementó la presente investigación para comparar la respuesta (tasa de preñez, servicios por preñez y días vacíos) entre el semen procesado en forma convencional y el de activación progresiva. De un total de 101 vacas en ordeño, 49 fueron inseminadas con el semen “convencional” y 52 con el semen de “activación progresiva”, sujetas al mismo plan de manejo reproductivo y con las mismas condiciones ambientales, se obtuvo: 34 vacas preñadas con 65% de tasa de preñez , 1.53 servicios por concepción y 69 días abiertos con semen de activación progresiva, en tanto el “convencional”; el valor de las mismas variables fue 21, 43%, 2.30 y 69, respectivamente. El análisis estadístico indicó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para número de vacas preñadas, tasa de preñez y servicios por concepción favor del semen de “activación progresiva”. Concluyendo que el uso de semen de liberación progresiva mejora el número de servicios por preñez, la tasa de concepción y el número de vacas preñadas, recomendado el uso de semen de activación progresiva.

**Palabras clave:** Semen de activación progresiva; Reproducción; Vacas Lecheras.

## ABSTRACT

The present research work was to determine the effectiveness of reproduction with progressively activated spermatozoa in Holstein cows in Lambayeque, due to a series of factors that play an important role in the productive capacity and reproductive efficiency. Achieving an inadequate pregnancy rate with a greater number of services per conception. A relatively new technique, in which semen treated by progressive activation microencapsulation allows cows to be served without the conventional artificial insemination protocol. Therefore, the present investigation was implemented to compare the response (pregnancy rate, services per pregnancy and empty days) between conventionally processed semen and progressively activated semen. From a total of 101 milking cows, 49 were inseminated with "conventional" semen and 52 with "progressive activation" semen, subject to the same reproductive management plan and with the same environmental conditions, it was obtained: 34 cows pregnant with 65% pregnancy rate, 1.53 services per conception and 69 open days with semen of progressive activation, while the "conventional" one; the value of the same variables was 21, 43%, 2.30 and 69, respectively. Statistical analysis indicated significant differences ( $P < 0.05$ ) for number of pregnant cows, pregnancy rate and services per conception in favor of "progressive activation" semen. Concluding that the use of progressive release semen improves the number of services per pregnancy, the conception rate and the number of pregnant cows, the use of progressive activation semen is recommended.

**Key words:** Progressive activation semen; Reproduction; Dairy cattle.

## I. INTRODUCCIÓN

Uno de los factores fundamentales en la explotación de la vaca lechera se centra en una adecuada reproducción; en ésta juega un rol trascendental, la detección del celo para el servicio a través de la inseminación artificial. Sin embargo, se tiene una serie de circunstancias que impiden determinar el momento óptimo de inicio del celo con deterioro en los resultados de la consecuente inseminación.

Por lo expuesto, a lo largo de las décadas de desarrollo de la industria lechera, en casi todos los países del mundo, se ha realizado investigaciones con la finalidad de lograr mayores tasas de concepción con la menor cantidad de servicios. Los productores han destinado mano de obra (personal capacitado) para la supervisión del rebaño y poder detectar el momento oportuno de la presentación del celo y realizar la inseminación con éxito; no obstante, se ha reconocido que siempre el éxito ha sido elusivo o no muy frecuente.

En países tropicales, como el nuestro y, sobre todo, en regiones como Lambayeque, con elevadas temperaturas ambientales durante el verano y predominante escasez de forraje durante gran parte del año, se multiplican las posibilidades de fallas en la concepción

Es pertinente preguntar: ¿Se logrará adecuada tasa de concepción en vacas lecheras Holstein si se emplea en la inseminación artificial semen con espermatozoides tratados para activación progresiva sin tener en cuenta el momento de manifestación del celo y bajo las condiciones de Lambayeque?

El relativamente reciente advenimiento de las técnicas de encapsulación de espermatozoides ha ofrecido la posibilidad de nuevos enfoques para varias cuestiones de la bioquímica, la fisiología y la tecnología de los espermatozoides. Un desarrollo tecnológico particular implica la posibilidad de escapar de las limitaciones del momento de la inseminación artificial en las proximidades de la ovulación (Pandolfi, 1996).

Si esto se hiciera realidad, habría ventajas económicas considerables en la producción de animales domésticos porque se obviaría la necesidad de identificar el estro. En animales no domésticos, habría una mayor expectativa de concepción después de la inseminación artificial, porque la detección del período receptivo sigue siendo una dificultad importante en muchas especies.

Dado que al Perú ha ingresado remesas comerciales de semen producido con la tecnología Sperm Vital, indicamos que *Sperm Vital AS es una compañía subsidiaria de la Asociación Noruega de Reproducción e Inseminación Artificial (Geno) que ha desarrollado una tecnología de procesamiento de semen en la que las células espermáticas son inmovilizadas en un gel dilutor de alginato antes de la crío preservación* (Berg, 2020); indicando que se trata de una tecnología, aunque no de reciente estudio, sí de reciente difusión comercial. El mismo autor Berg, (2020) indica que:

La tecnología de inmovilización Sperm Vital (SV) tiene propiedades crío protectoras y ocasiona una mejora en la calidad y viabilidad post congelación de los espermatozoides en comparación con el semen procesado convencionalmente. Las células espermáticas son inmovilizadas en el gel de alginato para facilitar la liberación gradual de

espermatozoides en un período prolongado *in útero* después de la inseminación artificial (IA). Extendiendo el tiempo en el que células espermáticas viables estarán presentes *in útero*, la tecnología SV haría más flexible el momento de la IA con relación a la ovulación e incremento de la probabilidad de fertilización. En consecuencia, el empleo de semen SV puede contribuir a engrandecer el espacio para la adaptabilidad en las rutinas de IA e incrementar la eficiencia del costo mediante el mejoramiento del rendimiento reproductivo.

El hecho que se pueda mantener la capacidad fecundante, sin consideración del momento de inseminación y la reducción de observadores en la detección del celo se reflejarían en la economía de las explotaciones lecheras, tan aquejadas por los sobre costos y el bajo precio de la leche en los establos.

Si la teoría que sostiene que la micro-encapsulación de los espermatozoides y su liberación progresiva en el aparato reproductor femenino permite adecuadas tasas de concepción sin tener en consideración el momento de la ovulación es valedera, sería de gran importancia para el sector ganadero. Así, si se puede determinar que la utilización de semen en los que se ha aplicado la técnica de encapsulación y liberación progresiva de los espermatozoides es efectiva en el logro de adecuados índices técnicos de fertilidad en las vacas lecheras Holstein, sin estar sujeto al momento de presentación del celo, se podría generar múltiples beneficios técnico-económicos en la producción ganadera local.

Se plantearon los siguientes objetivos:

**Objetivo General:**

Determinar y evaluar la eficiencia reproductiva de vacas Holstein al emplear semen tratado a través de microencapsulación para liberación progresiva sin tener en consideración el momento de avistamiento del celo en comparación con el semen convencional.

**Objetivos Específicos:**

1. Determinar y analizar la tasa de concepción al primer servicio y total.
2. Determinar y analizar la cantidad de servicios por concepción.
3. Determinar y analizar la cantidad de días abiertos.
4. Determinar y analizar el efecto de la edad (partos) y sementales sobre las variables evaluadas.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. Antecedentes Históricos

Weber, et al.(2006), Indicaron que con una tasa superior al 90% en ganado vacuno, es ideal en la Inseminación Artificial, esperando que éste éxito se logre con la persistencia prolongada de los espermatozoides en el útero, para lo cual evaluaron el diseño de protocolos compatibles de alto rendimiento para micro encapsulación, crio preservación y liberación de espermatozoides bovinos; concluyendo que la liberación controlada, asociada con la micro encapsulación de espermatozoides bovinos, puede constituir un enfoque promisorio para incrementar la exitosa tasa de la inseminación artificial.

No obstante, algunos resultados de investigación no han sido aún contundentes; por ejemplo, Kusumaningrum, et al.(2015), evaluaron la crio preservación de esperma micro encapsulado utilizando glicerol y concluyeron que los procesos de micro encapsulación alteraron la viabilidad de los espermatozoides; el alginato tuvo un rol importante como crío protector extracelular. Además, indicaron que la crio preservación de espermatozoides micro encapsulados puede realizarse utilizando 5 o 7% de glicerol en 3 – 4 horas de duración del tiempo de equilibrio.

Pero, con resultados en sentido contrario al reportado por Kusumaningrum, et al. (2015), Standerhole, et al. (2015), quienes estudiaron el uso de semen bovino inmovilizado crio preservado en un ensayo ciego de inseminación artificial, demostrando que los espermatozoides del semen crio preservado brindan los mismos resultados de fertilidad

que el semen procesado con la tecnología estándar cuando la inseminación se realiza en un ensayo de campo ciego, aunque el procedimiento de inmovilización causó un mayor daño a los espermatozoides evaluados *in vitro* en comparación con el semen procesado en forma estándar.

Standerhole, et al. (2015), con la finalidad de prolongar la vida útil de los espermatozoides después de realizado la Inseminación Artificial, emplearon la encapsulación de espermatozoides por medio del gel alginato-semen procesado mediante la tecnología de inmovilización de espermatozoides desarrollada por Sperm Vital-, comparándolo con el semen estándar procesado con el diluyente Biladyl (control). Se evaluó la integridad del acrosoma y la membrana plasmática comparándolos con los datos de fertilidad de la inseminación artificial para una posible correlación. Se recolectaron y procesaron el semen de 16 toros jóvenes Norwegian Red con fertilidad desconocida; las muestras de semen se dividieron en dos alícuotas, una para procesar con el extensor Biladyl estándar y el otro con el extensor Sperm Vital hasta un número final de 12 – 106 y 25 – 106 espermatozoides/dosis, respectivamente. En total, se produjeron 2000 dosis de semen de cada toro, divididas equitativamente por tratamiento. Se establecieron dosis de inseminación artificial para diseñar un régimen de IA ciego; Se distribuyeron 5 pajuelas de cada diluyente dentro de los eyaculados en copas de diez pajuelas a técnicos de IA y veterinarios de toda Noruega. Los resultados de las inseminaciones se midieron como tasa de no retorno (NRR) de 56 días. La calidad del esperma después de la descongelación se evaluó mediante citometría de flujo utilizando yoduro de propidio y aglutinina de maní conjugada con Alexa 488 para evaluar la proporción de células espermáticas intactas con la membrana plasmática y el acrosoma,

respectivamente. En total, se utilizaron en los análisis estadísticos los datos de 14 125 primeras inseminaciones realizadas durante un período de 12 meses, 7081 con Biladyl y 7044 con semen SpermVital. No hubo diferencias significativas en el NRR de 56 días para las dos categorías de semen, siendo el NRR general del 72,5 % y el 72,7 % para Biladyl y SpermVital, respectivamente. Los resultados de la citometría de flujo revelaron un nivel significativamente mayor de espermatozoides vivos con acrosoma intacto en el semen procesado con Biladyl en comparación con el semen de SpermVital. Los resultados indican que el nivel de espermatozoides vivos con acrosoma intacto en la dosis de IA no afectó el NRR de 56 días para los dos métodos de procesamiento de semen. En conclusión, este estudio ha demostrado que los espermatozoides inmovilizados proporcionan los mismos resultados de fertilidad que el semen procesado estándar cuando la IA se realiza en un ensayo de campo ciego.

Perteghella, et al., (2017), realizaron un estudio para determinar si la encapsulación con alginato preservaba la calidad y capacidad fertilizante de los espermatozoides de búfalo de agua mediterráneo italiano (*Bubalus bubalis*) y de ganado Holstein Friesian (*Bos taurus*) después de la crio preservación. En este estudio se describió por primera vez el uso de la encapsulación con alginato y la crio preservación de espermatozoides de búfalo, y el mismo procedimiento se realizó con semen Holstein Friesian (*B. taurus*). Los resultados obtenidos de los análisis *in vitro* indicaron que el proceso de encapsulación no tiene efectos perjudiciales (en comparación con el método control) en los parámetros de calidad (integridad de la membrana, motilidad progresiva, velocidad promedio del trayecto) en ninguna de las especies. De manera similar, no hubo efectos perjudiciales después de la crio preservación en ninguna de las especies. Se evaluó el

potencial fertilizante del semen encapsulado y crio preservado, después de la inseminación artificial de 25 búfalas y 113 hembras vacunas; las tasas de preñez no se vieron afectadas en ninguna de las dos especies.

Alm-Kristiansen, et al. (2017) realizaron un estudio con el objetivo de comparar la calidad espermática post- descongelación y la supervivencia *in vitro* a través del tiempo de semen de toros de la raza Roja Noruega, procesado por la tecnología Sperm Vital® (SV), la primera línea de producción comercializada de SV (C) y por el procedimiento convencional aplicando diluyente Biladyl® (B). Determinaron que la motilidad espermática posterior a la descongelación no difirió significativamente entre el semen entre el semen SV, C y B ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, la viabilidad de los espermatozoides y la integridad del acrosoma fueron mayores para el semen SV que para el semen C y B ( $P < 0.05$ ). Observaron pequeñas diferencias en la calidad del ADN ( $P < 0.05$ ). La viabilidad de los espermatozoides después del almacenamiento en el útero *ex vivo* fue mayor para el semen SV que para el semen C ( $P < 0.05$ ). Además, la supervivencia *in vitro* de los espermatozoides, a lo largo del tiempo, a temperatura fisiológica, fue significativamente mayor para el semen SV que para el semen C, así como para el semen B durante el período de incubación de 48 horas ( $P < 0.05$ ). Los investigadores concluyeron que la tecnología SV mejora y es más eficiente en la conservación de la calidad del esperma después de la descongelación y da como resultado una mayor viabilidad del esperma, en relación al tiempo, *in vitro* para el semen SV que para el semen C y B.

Berg, (2020), realizó estudios de gel con semen inmovilizado mediante endoscopia intrauterina post inseminación artificial. El objetivo de su investigación fue examinar la disolución *in vivo* del gel de alginato Sperm Vital (SV) a lo largo del tiempo mediante endoscopia y, en segundo lugar, evaluar la calidad de los espermatozoides después de la incubación del gel. La endoscopia *in vivo* mostró gel SV en el útero a las 3, 6, 20 y 24 horas después de la inseminación artificial lo que demostró que se mantuvo una alta motilidad y viabilidad de los espermatozoides después de la incubación durante la noche.

Los resultados de las investigaciones a través del tiempo evidencian que la tecnología de la encapsulación en gel de alginato ha ido mejorando progresivamente, al punto de convertirse en una estrategia muy interesante para lograr mayor eficiencia en la reproducción del ganado lechero. Esto permitiría destinar los recursos económicos que se invierten en detección del celo a otras actividades que inciden directamente en la producción, como es el mejor manejo de la alimentación.

### **2.1.2. Antecedentes Internacionales.**

Ansari-Lari, et al.(2010), evaluaron el rendimiento reproductivo de vacas Holstein en lactación en Irán, seleccionaron cinco grandes rebaños lecheros de las áreas de mayor producción de leche de Irán; considerando el número de parto de la madre, fecha de parto, días al primer servicio, días abiertos, número de servicios, período seco y ocurrencia de enfermedades para vacas que parieron entre 2004 y 2007. Los resultados mostraron que la media ( $\pm$ SD) de días abiertos, intervalo entre partos y días al primer servicio fue de 134 ( $\pm$ 89), 403 ( $\pm$ 86) y 67 ( $\pm$ 38) días, respectivamente. Las tasas de

concepción al primer servicio y la tasa general de servicios por concepción estuvieron en 41.6 y 41%, respectivamente. El nivel de producción de leche y enfermedades tuvieron efectos negativos significativos sobre los días abiertos y servicios por concepción. Las vacas de primer parto requirieron menos servicios por concepción que las de segundo, tercero, cuarto y quinto y posteriores (2.1 vs. 2.6, 2.7, 2.7 y 3.0, respectivamente ( $P < 0.05$ )). Para baja, media y alta producción de leche se obtuvo 2.3, 2.5 y 2.6 servicios por concepción, respectivamente ( $P < 0.05$ )). Los autores manifestaron que la alta producción de leche es un factor de riesgo que disminuye la fertilidad de las vacas en Irán.

Sakaguchi, (2011) indicó que para establecer la sustentabilidad en la industria lechera es importante que las vacas sean preñadas en un momento biológicamente óptimo y a un intervalo después del parto económicamente rentable. Con relación a la edad al primer parto manifestó que hubo una reducción de 25.1 a 21.5 meses, con la misma tasa de crecimiento durante los primeros 12 meses post nacimiento, sin efectos negativos sobre el rendimiento. Así mismo, la investigación revisada por este autor le permitió manifestar que el inicio prematuro en la actividad estrual no mejora la fertilidad y a menudo ocurre durante el período reproductivo retornar al anestro después del inicio de la actividad estrual. Se considera que el rendimiento de leche y el porcentaje de pérdida corporal podrían ser indicadores de eventos reproductivos.

Dinka (2012) reportó los resultados de un estudio para evaluar el rendimiento reproductivo de vacas lecheras cruzadas bajo condiciones de pequeños productores en Etiopía. Se estudió el comportamiento reproductivo de 250 vacas lecheras mestizas. Los

valores medios generales estimados para edad al primer servicio, edad al primer parto, intervalo entre partos, días abiertos y número de servicios por concepción fueron de  $24.9 \pm 3.8$  meses,  $34.8 \pm 4$  meses,  $372.8 \pm 5.9$  días,  $85.6 \pm 5.6$  días y  $1.52 \pm 0.9$  servicios, respectivamente. En general, se encontró que el desempeño reproductivo general observado de las vacas lecheras cruzadas fue prometedor, considerando la situación de manejo y el alimento suplementario limitado utilizado en el área.

Khan, Uddin y Gofur (2015) evaluaron el efecto de la edad, número de parto y raza sobre la tasa de concepción y número de servicios por concepción en vacas inseminadas artificialmente. Se inseminó un total de 133 vacas entre las 6 – 20 horas del inicio del celo. Sus resultados mostraron que 101 animales requirieron 1 – 2 servicios y 32 requirieron 3 o más servicios. De las 133, 79 concibieron. De las que requirieron 1 – 2 servicios mostraron una tasa de concepción de 62.4% y las de 3 o más servicios 50% de concepción. La tasa de concepción general con semen congelado (en vacas nativas Cebú, cruces Holstein y cruces Sahiwal) fue de 59.3%. Se encontró un incremento significativo en la tasa de concepción en el segundo y tercer parto ( $P < 0.02$ ) y fue de 73 – 75%, las vacas de segundo y tercer parto tuvieron incrementos en tasa de concepción de varias veces que las nulíparas. La tasa de concepción en los diferentes grupos de edad fue más alta entre 3.5 – 5 años (77.8%) y el grupo de más de 9 años presentó una disminución significativa ( $P < 0.001$ ) en comparación con los otros grupos de edad. En los diferentes grupos raciales, la tasa de concepción fue más alta (64%) en el ganado nativo, intermedia (57%) en los cruces Friesian y la más baja (53%) en cruces Sahiwal. La menor cantidad de servicios por concepción se dio en los cruces Friesian (1.6), intermedia (1.8) en cruces

Sahiwal y la más alta (2.3) en vacas locales. Así mismo, se requirió más servicios para vaquillas que para los animales más viejos.

Liu, et al.(2018), evaluaron el efecto de los cambios estacionales sobre parámetros de fertilidad de vacas lecheras Holstein en clima subtropical en Taiwán, sus resultados indicaron que la edad promedio al primer servicio fue de 493.2 días, la longitud de la gestación fue similar para todas las vacas de diferentes partos (variando de 275.1 a 280.7 días), la tasa de concepción general de todas las inseminaciones fue significativamente menor en las vacas multíparas ( $47.26 \pm 0.22\%$ ) que en las vaquillas ( $57.15 \pm 0.11\%$ ) ( $P < 0.05$ ). Con índice temperatura – humedad  $> 72$  y durante la estación cálida (junio noviembre) la tasa de concepción de las vacas multíparas se redujo significativamente en comparación con las vaquillas, en tanto que la variación permaneció inalterada entre las vaquillas para todas las estaciones.

Muller, Cloete y Bothra (2018), evaluaron los registros de 9046 vacas de 14 rebaños Holstein de Sudáfrica, lo que mostró que el número de lactación, año y estación de parto afectaron significativamente aspectos de la fertilidad, el mayor efecto se atribuyó al manejo del rebaño. La media  $\pm$  SD para los intervalos parto – primer servicio y parto – concepción fueron de  $77 \pm 30$  y  $134 \pm 74$  días, respectivamente. La cantidad de servicios por concepción fue  $2.55 \pm 1.79$ . La proporción de primeros servicios dentro de los 80 días postparto y la cantidad de vacas con preñez confirmada dentro de los 100 y 200 días postparto fue  $0.64 \pm 0.48$ ,  $0.36 \pm 0.48$ , y  $0.71 \pm 0.45$ , respectivamente.

Kim y Jeong (2019), determinaron los factores de riesgo que limitan la tasa de concepción al primer servicio en vacas lecheras y su impacto económico. Se colectó datos de 790 lactaciones considerando el número de parto, desórdenes peri y postparto, calificación de la condición corporal (BCS), rendimiento reproductivo y gastos asociados con el manejo reproductivo (tratamiento médico, descarte y otros). Entre sus resultados, indicaron que las vacas con  $BCS < 3.0$  tuvieron menor probabilidad (0.64) de concebir al primer servicio ( $P < 0.05$ ) que las vacas con  $BCS > 3$ . Las vacas servidas durante el verano tuvieron menor probabilidad (0.44) de concebir ( $P < 0.01$ ) que las servidas durante la primavera. Las vacas con desórdenes peri y postparto tuvieron menor probabilidad (0.55) de concebir ( $P < 0.01$ ) que aquellas que no presentaron desórdenes. Las curvas de supervivencia generadas utilizando Med Calc mostraron una extensión de 81 días en el intervalo parto – concepción en las vacas que no preñaron en comparación con las que sí lo hicieron en el primer servicio. Las vacas que fallaron en preñar requirieron un gasto adicional en tratamiento médico reproductivo (\$ 55.40) y en manejo (\$ 567.00) que las que preñaron al primer servicio.

Turkyilmaz (2020) investigó el rendimiento reproductivo y factores que lo influyen en ganado Holstein criado en una empresa privada de ganado lechero en Aydın, Turquía. En un período de diez años se analizaron 480 registros reproductivos. La media de días abiertos, servicios por concepción, período de gestación e intervalo entre partos fue de  $114.5 \pm 1.7$  días,  $2.0 \pm 0.04$  servicios,  $278.7 \pm 0.3$  días y  $394.9 \pm 1.9$  días, respectivamente. Se determinó que el efecto del número de lactación sobre el período de gestación fue

estadísticamente significativo ( $P < 0.001$ ), en tanto que el año de parto y la estación de parto no tuvieron efecto significativo sobre el rendimiento reproductivo.

### **2.1.3. Antecedentes Nacionales**

Sandoval Suclupe (2022), Con la finalidad de obtener una mayor tasa de preñez en vacas cruzadas por Brown Swiss y puras Brown Swiss en Lambayeque, mediante el uso de semen encapsulado y de activación progresiva, se emplearon 27 vacas Jersey x Brown Swiss, Holstein x Brown Swiss y Brown Swiss, de segundo y tercer parto, todas las vacas estuvieron con una condición corporal por encima de 3 y, sin diferencias significativas entre tipos de semen y grupos raciales; el período post parto general fue de 80.96 días. La tasa de preñez obtenida fue de 50% con el semen convencional y 73.3% con el semen innovado ( $P < 0.05$ ). El tiempo entre la detección del celo y el servicio fue de 10.81 horas con el semen innovado y 5.09 horas con el semen innovado. Los resultados encontrados determinaron que es posible mejorar significativamente la tasa de preñez con el empleo de semen con espermatozoides encapsulados y activación progresiva y es recomendable su empleo.

## **2.2. Tasa de Preñez en vacas lecheras**

Actualmente para determinar el desempeño reproductivo, se recomienda la tasa de preñez, la cual es un índice que refleja de forma objetiva la rapidez con que se preñan las vacas en el establo, depende directamente de la tasa de servicio mensual (vacas vacías que se sirvieron en el mes) y la tasa de concepción mensual (vacas servidas que preñaron en el mes) Sandoval Monzon, Ruíz García y Carcelén Cáceres (2017).

En climas cálidos la fertilidad de las vacas lecheras disminuye durante el verano, reduciendo la longitud e intensidad del celo (Correa-Calderon, et al. 2009), específicamente en vacas de alta producción, ocasionando una reducción en la producción de leche; afectando el ciclo estral y reduciendo la duración e intensidad del estro, con una disminución de la tasa de concepción a niveles de 10%, en parte debido a una disminución de ingesta de alimento, aunque la razón principal se debe a un efecto directo del estrés calórico (Vasquez Requena, et al. 2017). Por otro lado, la búsqueda de animales de alta productividad, a través del mejoramiento genético, ha devenido que las vacas tengan una menor tasa de fertilidad, limitando el esfuerzo para mejorar la tasa de preñez (Sandoval Monzon, Ruíz García, y Carcelén Cáceres, 2017)

Además, el uso de la inseminación artificial ofrece menores tasas de concepción que la monta natural, siendo la causa fundamental, una inadecuada detección de los celos que lleva a que la IA no se realice en el momento adecuado, aumentando el número de días abiertos. (Sepulveda y Rodero, 2003).

Concluyendo que, los factores que influyen sobre la tasa de servicio se encuentran la pobre expresión del celo, fallas en la detección de celos, problemas de salud reproductiva periparto, número de ordeños, número de parto, nivel productivo y estrés calórico (Sandoval Monzon, Ruíz García y Carcelén Cáceres, 2017)

### **2.3. Número de servicios por concepción**

Una vaca debe quedar gestante con un servicio o máximo dos. Aunque encontramos aceptables tres servicios por preñez, este ya es antieconómico por gastos de trabajo, personal, semen, servicios y días perdidos (González Stagnaro, 1985).

Rojas (2005) y Montiel (2006) indican que el número de servicios por concepción postparto puede verse influenciado por las diferencias entre las técnicas de detección de celos, la habilidad del inseminador, semen utilizado (Torres Chávez, 2009).

Montiel (2006) mencionado por Torres Chávez, (2009), en su revisión literaria, manifiesta valores de 1.2 a 1.6, 1.60 a 3.10; 1.69, 2.38, 2.40, 2.75 y 2.38 servicios por preñez

#### **2.4. Días Abiertos**

Son parte de los problemas de la producción lechera la presencia de anestros prolongados, dando como resultado un aumento el intervalo parto primer servicio, con menor número de crías al año (Torres Chávez, 2009).

Los factores para la presentación de anestros prolongados entre ellos se encuentran una mala nutrición, baja condición corporal, elevada producción láctea, enfermedades metabólicas, infecciones reproductivas y destete tardío son parte de los problemas en la producción lechera (Torres Chávez, 2009), siendo las tasas de concepción la principal causa del incremento de días abiertos debido a una disminución en la tasa de servicio (Bartolome y Archbald, 2011; Ferguson y Skidmore, 2013 mencionado por Sandoval Monzon, Ruíz García, y Carcelén Cáceres, 2017)

La primera ovulación después del parto suele ser a las tres semanas que es acompañado de celo indetectable. El primer celo detectable aparece a las cinco semanas después del parto (aproximadamente a los 35 días) (Risco y Archibald, 2005).

El intervalo entre partos viene determinado por el periodo voluntario de espera (Risco y Archibald, 2005), periodo que mínimo es de 40 a 50 días, de tal manera que periodos de espera voluntarios más largos de 100 días no mejora la tasa de concepción (Jiménez, 2016).

Los Parámetros usados para evaluar la eficiencia reproductiva de la granja, Risco y Archibald, (2005) recomiendan que los días abiertos deben ser de 125 días con un intervalo entre partos de 13 meses, con un índice de estado reproductivo de la granja mayor al 65%.

Jiménez, (2016), indica que cuando más corto sea el periodo voluntario de espera, se tendrá mayor proporción de vacas con intervalos de parto a parto, produciendo más tiempo con mayor eficiencia. Por eso que, a nivel de explotación, el intervalo óptimo entre partos se considera de unos 12 a 13 meses, quedando las vacas gestantes ente 3 y 4 meses después del parto.

Francesa, (2023), manifiesta que el mejor periodo voluntario de espera, puede variar según la condición corporal y la edad de la vaca, así como su historial y el manejo estratégico del ganado, recomendando una duración mínima de 45 a 60 días después del parto. Además, este lapso voluntario de espera, no solo varía entre una ganadería a otra, sino que puede ser diferente entre vacas de un mismo hato; así las vacas que tienen un pico de lactancia sobre la media del hato, se les mantiene en producción por más tiempo, porque si se preñan más temprano se secarían cuando están dando alta cantidad de leche (Gómez Velásquez, 2020).

Las vacas son de alta producción se les debería dar un periodo de espera sobre los 80 a 90 días, si están en el promedio, podrían preñarse a los 60 días; y se existieran vacas de bajo rendimiento, se optaría por inseminarlas entre el día 45 a 50 días después del parto (Gómez Velásquez, 2020).

Un aspecto importante es analizar el desarrollo ovárico para determinar si esta apta para el servicio al finalizar el puerperio (Gómez Velásquez, 2020). Teniendo una relación en el restablecimiento de la actividad cíclica en los ovarios con la recuperación del útero, de tal modo se debe procurar servir a la vaca entre 60 o 70 días, teniendo en cuenta los ovocitos que se están produciendo han tenido una preparación bioquímica y metabólica antes del parto.

## **2.5. Inseminación Artificial y Tratamiento del Semen**

Originalmente evolucionado en el ecosistema insecto planta para facilitar la reproducción vegetal, la inseminación artificial (IA) es ahora una práctica estándar en las sociedades humanas para optimizar la ganadería, en particular para el ganado lechero donde más del 90% de la reproducción se inicia artificialmente. La definición de Berg, (2020), de la IA es “la introducción deliberada de células espermáticas en el tracto reproductivo de la hembra para lograr la preñez, sin realizarse la monta”. Sin embargo, a pesar de los avances decisivos en la IA, la tasa de no retorno (definida como el porcentaje de vacas que tuvieron un primer servicio y no se informaron para un segundo servicio dentro de un cierto período de tiempo) no mejoró más allá del 70% debido a la limitada capacidad de fertilización de los espermatozoides en el útero (aproximadamente

20 horas) y la naturaleza empírica de la determinación del estro (Weber, Rimann, Schafroth, Witschi, & Fussengger, 2006) .

Existe consenso entre la comunidad de usuarios de la IA que la liberación controlada en útero de espermatozoides encapsulados puede limitar el transporte retrógrado y la fagocitosis, prevenir la capacitación prematura y así ampliar la competencia de fertilización de los espermatozoides inseminados, aliviando, de esta manera, la necesidad de una determinación de estro precisa y disponibilidad a corto plazo de técnicos inseminadores o veterinarios (Nebel, et al.1985). Como ha sido indicado por diversos investigadores, para obtener buenos resultados en fertilidad el servicio debe hacerse dentro de un período restringido de horas antes de la ovulación. Por esta razón, son benéficas las nuevas tecnologías que permitan prolongar el tiempo de vida de los espermatozoides *in vivo* después de la inseminación; de esta manera, el tiempo entre el servicio y la ovulación será menos crítico (Standerhole, et al.2015).

Una breve relación de eventos respecto al desarrollo de la IA, de las diferentes referencias citadas por Berg, (2020 pp. 18-19), indica que:

Los espermatozoides no están adaptados al almacenamiento *in vitro* a largo plazo. *In vivo*, los espermatozoides existen en un entorno fisiológico en cuanto a temperatura, osmolaridad y pH. En consecuencia, la conservación del semen para el almacenamiento *ex vivo* a corto y largo plazo presenta múltiples desafíos, como se informó anteriormente (Vishwanath y Shannon, 2000). La membrana plasmática de los espermatozoides es el sitio principal de daño sub letal y funcional después de la preservación del semen (Holt, Fundamental aspects of sperm cryobiology: The importance of species and individual

differences, 2000) ya que esta es la barrera de la célula contra el medio ambiente que la rodea. El núcleo y el flagelo son otras partes del espermatozoide que son propensas a sufrir daños y, por lo tanto, se usan comúnmente para evaluar el potencial de fertilización (Gómez, 2019).

Para evitar daños a la célula durante el procesamiento y el almacenamiento, se utilizan diluyentes de semen que han sido diseñados para proporcionar un entorno estable y eliminar el crecimiento bacteriano, estabilizar el pH y la presión osmótica, y ofrecer disponibilidad nutricional (Vishwanath & Shannon, 2000) . El descubrimiento de Lardy y Phillips (1939) de que la yema de huevo (EY) podría usarse como agente crio protector en el procesamiento de semen fue un gran avance en el desarrollo de la tecnología comercial de procesamiento. La EY funciona como una fuente de lipoproteínas para prevenir el choque por frío durante el procesamiento. Se ha demostrado que otras sustancias de alto peso molecular, como la leche, la lecitina de soja y el aceite de coco, poseen propiedades similares adecuadas para la protección de los espermatozoides (Vishwanath y Shannon 2000, Layek, Mohanty y Parque 2016, Raheja, et al.2018).

El uso de diluyentes de semen brinda la protección de la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática de los espermatozoides, posibilitando el procesamiento de un número previamente establecido de espermatozoides para su conservación; ya sea conservación a corto plazo en forma líquida o conservación a largo plazo mediante crio preservación por inmersión en nitrógeno líquido (LN<sub>2</sub>, -196°C) (Viotii, 2011). En el campo, el semen que ha sido procesado con fines comerciales generalmente se almacena en contenedores de aluminio aislados para uso móvil (10-40 L de capacidad de LN<sub>2</sub>),

divididos en recipientes y copas que se sumergen en LN<sub>2</sub>. Cada copa contiene dosis de semen conservadas en pajuelas, más comúnmente mini pajuelas Cassou de 0,25 ml (IMV Technologies, L'Aigle, Francia) que son adecuadas para usar con semen congelado y líquido.

El alta crio tolerancia del semen bovino en comparación con el semen de otras especies domésticas, como el semen porcino (Yeste, Rodríguez-Gil, & Bonet, 2017), ha resultado en el uso generalizado de la crio preservación en la ganadería. La larga vida útil y la alta bioseguridad después de la congelación del semen han contribuido al uso generalizado de la crio preservación del semen bovino. Sin embargo, en áreas geográficamente restringidas con una alta densidad de ganado lechero, como Nueva Zelanda e Irlanda, el uso de semen líquido de toro es común.

El alta crio tolerancia del semen bovino en comparación con el semen de otras especies domésticas, como el semen porcino (Yeste, Rodríguez-Gil, & Bonet, 2017), ha resultado en el uso generalizado de la crio preservación en la ganadería. La larga vida útil y la alta bioseguridad después de la congelación del semen han contribuido al uso generalizado de la crio preservación del semen bovino. Sin embargo, en áreas geográficamente restringidas con una alta densidad de ganado lechero, como Nueva Zelanda e Irlanda, el uso de semen líquido de toro es común.

La producción altamente efectiva de semen líquido es particularmente relevante durante los picos de reproducción estacionales y los momentos de alta demanda de dosis de semen (Vishwanath & Shannon, 2000). La producción efectiva de semen líquido es especialmente favorable para toros jóvenes seleccionados genómicamente con altos

valores genéticos, ya que sus eyaculados son de menor volumen que los de toros más maduros (Brito, et al. 2002) La dosis típica de semen líquido contiene  $5 \times 10^6$  espermatozoides en comparación con  $15 \times 10^6$  espermatozoides para una dosis típica de semen congelado-descongelado (Vishwanath et al., 1996).

Resulta evidente que la investigación dio lugar al desarrollo tecnológico en esta rama de la industria ganadera; no obstante, aún había, y habrá, aspectos de gran importancia para la economía ganadera. Entre los que se encuentra el directamente relacionado con la eficiencia reproductiva considerando la cantidad y calidad del semen. En la tesis de doctorado del mismo autor (Berg, 2020, pp. 19-20) también se indicó que:

Con el advenimiento de la ciencia de la reproducción moderna, se introdujo la vitrificación como método para la conservación del semen (Luyet & Hodapp, 1938) . Este método implica la transición del semen líquido a un estado vítreo no cristalino mediante congelación rápida (Isachenko, et al. 2004). El descubrimiento del glicerol como protector de los espermatozoides durante la conservación después de la congelación lenta del semen ( (Polge, Smith, & Parkes, 1949)), combinado con un mayor conocimiento sobre las respuestas celulares a otros agentes crioprotectores (CPA), proporcionó la entrada al uso comercial generalizado de IA (Aniruddha Bagchi, 2014)

La alta tolerancia de los espermatozoides bovinos en glicerol en comparación con los espermatozoides de otras especies, junto con el bajo número de espermatozoides necesarios para lograr la fertilización en el ganado, son las principales razones del gran éxito de la IA en la industria ganadera (Holt, 2000b). Debido al efecto inhibitorio de las

temperaturas bajo cero sobre la actividad metabólica de los espermatozoides y al descubrimiento del glicerol como CPA, inicialmente se utilizó CO<sub>2</sub> sólido para conservar y almacenar el semen bovino a -79°C. En la década de 1950 se demostró que el almacenamiento a -79°C no detenía completamente la actividad biológica, y esto se subsanó utilizando LN<sub>2</sub> (-196°C) (Bell, 2004).

El desarrollo de contenedores con aislamiento mejorado (Foote, Brockett, & Kaproth, 2002) permitió el uso de LN<sub>2</sub> en el campo. En el proceso de enfriamiento de equilibrio (enfriamiento lento) de las células para crio preservación, se añade un CPA a las células en suspensión antes de enfriarlas a 0°C aproximadamente. Luego, el semen se lleva a -80°C mediante enfriamiento lento, a una velocidad de 5-10°C por minuto, y luego se congela rápidamente en LN<sub>2</sub> a -196°C para su almacenamiento (Juan de Paz, et al.2015). El efecto general de un CPA es reducir el punto de congelación del agua y, por lo tanto, crear un gradiente osmótico para la extracción de agua intracelular para reducir la formación de cristales de hielo intracelulares durante la congelación (Zonis, 2020). Además de EY, los CPA comúnmente utilizados son el glicerol y el dimetil sulfóxido (DMSO), ambos son crio protectores penetrantes que pueden atravesar la membrana celular, lo que reduce el daño celular al prevenir los efectos de concentración de los medios extracelulares (Vishwanath & Shannon, 2000). La sacarosa y el dextrano son CPA no penetrantes que, en caso de congelación, dan como resultado la formación de redes cristalinas extracelulares de hielo que se cree que proporcionan un escudo para la protección de los espermatozoides (Nicolaisen & Hvidt, 1994).

A pesar de los efectos crioprotectores del glicerol al CPA, una gran proporción de espermatozoides mueren o se deterioran debido al estrés físico y químico durante la criopreservación y descongelación (Isachenko, et al. 2004), lo que resulta en una disminución de la fertilidad (Yeste M., 2016). Existen diferencias entre especies en la cantidad de espermatozoides necesarios para lograr la fertilización. La fisiología del espermatozoide, la anatomía del tracto femenino, los mecanismos de transporte del espermatozoide y la probabilidad de identificar el momento óptimo y la entrega de los espermatozoides son variables importantes que varían entre las especies y que pueden afectar potencialmente el resultado de la fertilidad (Holt, 2000b). Además, las especies difieren en la susceptibilidad de su espermatozoide al daño criogénico; el espermatozoide del toro y el carnero parecen resistir los efectos nocivos de la congelación mejor que el espermatozoide porcino y canino. La alta tolerancia a la congelación de los espermatozoides de toro y carnero posiblemente se deba a la mayor proporción de ácidos grasos insaturados/ saturados de la membrana y a los niveles más bajos de colesterol en las membranas de espermatozoides de toro y carnero (Peris-Frau, et al. 2020).

El conocimiento sobre las diferencias entre especies en la anatomía, fisiología y susceptibilidad de los espermatozoides al daño criogénico con el uso de la criopreservación de semen es, por lo tanto, crucial para lograr el éxito reproductivo. Además, se observan diferencias en la capacidad de los espermatozoides para soportar la congelación entre razas e individuos (Holt, 2000b). Esto significa que existe un potencial de mejora en la criopreservación mediante la personalización de los medios de procesamiento de semen y las tasas de enfriamiento y descongelación del semen de machos genéticamente valiosos.

Un avance en la tecnología del procesamiento del semen lo constituye la encapsulación y liberación progresiva de los espermatozoides se realiza en geles de alginato, los que se forman por interacciones entre iones divalentes como el  $\text{Ca}^{2+}$  y estructuras de bloques de ácido gúlcrico en la cadena polímera de alginato. Así, la formación de estos geles puede hacerse en condiciones muy suaves y de esta manera ha sido utilizado comúnmente para la inmovilización de varios tipos de células. Sin embargo, la inmovilización en alginato ha sido, comúnmente, más empleada como un punto de partida para la formación posterior de varios tipos de cápsulas con un núcleo líquido. Existe información científica relacionada con la encapsulación de espermatozoides dentro de micro cápsulas, los reportes indican que se ha utilizado métodos en los que los espermatozoides se localizaron dentro de partículas de núcleo líquido rodeadas por una membrana (Nebel, et al. 1985, Nebel, et al. 1993, Vishwanath y Shannon 1997., Nebel, et al. 1996, Munkittrick, Neble y Sacke 1996) y que motivarían mayor eficiencia reproductiva, aun cuando se aplique en regiones cálidas como Lambayeque.

## **2.6. Indicadores Reproductivos**

En el campo de la explotación de vacunos lecheros se emplean una serie de indicadores relacionados con el comportamiento reproductivo de las vacas, entre los que se encuentran la cantidad de servicios por concepción, en intervalo de días vacíos, el intervalo entre partos, etc., cada uno de ellos indica la eficiencia reproductiva desde diferentes aspectos. En la presente investigación se consideró los siguientes: Servicios por concepción, Días abiertos, Tasa de concepción al primer servicio y el Tiempo transcurrido desde la observación del celo hasta el servicio.

La fertilidad es un aspecto complejo debido a que está sujeta a efectos multifactoriales, que es difícil de mejorar genéticamente debido a la baja heredabilidad, por lo que las vacas que no logran preñarse son, normalmente, eliminadas del rebaño (Banos & Coffey, 2010; Muller, Cloete, & Bothra, 2018). Esto evidencia que los factores de tipo ambiental (calificación de la condición corporal, estado del semen, habilidad del inseminador, etc.) son los que influyen directamente en el logro de adecuados indicadores reproductivos.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Tipo y Diseño de Investigación

La investigación fue de naturaleza cuantitativa, de tipo aplicado y experimental; es aplicativo dado que pretende la solución de un problema concreto (fertilidad con semen de activación progresiva) y práctico (concepción de las vacas al realizar la inseminación artificial sin tener en cuenta el momento de detección del celo).

### 3.2. Localización

El estudio se realizó en el Establo Lechero GESA SAC, ubicado en carretera Panamericana Norte, Km 778, distrito, provincia y región Lambayeque. Cuenta con 100 vacas en ordeño de la raza Holstein. En la zona en la que está ubicado el establo las estaciones del año no están muy diferenciadas a lo largo del año, el clima es relativamente benigno para las vacas lecheras, con excepción de 4 meses (diciembre a marzo) en los que la temperatura ambiental promedio puede superar los 30°C.

### 3.3. Tratamientos

**T<sub>1</sub>**: vacas servidas con semen convencional.

**T<sub>2</sub>**: vacas servidas con semen tratado por micro-encapsulación, de activación progresiva.

Para calcular el tamaño de muestra, a partir de una población finita, se empleó la siguiente relación:  $n = (NZ^2pq) / [e^2(N-1) + Z^2pq]$ ; (Pita, 2010).

dónde: N=100 vacas; Z=multiplicador normal de confianza al 95% (1.96); p=0.05; q=1- p; e=error dispuesto a tolerar (0.05).

La aplicación de la fórmula permitió obtener un tamaño de muestra de 43 vacas, lo que se redondeó a 45. Si bien la aplicación del procedimiento estadístico permitió estimar que la cantidad de vacas que recibirían el semen experimental (Sperm Vital) no podía ser inferior a 45, en la aplicación de campo se sirvió a 52 con este semen y a 49 con el semen convencional.

#### **3.4. Alimentación, Manejo e Instalaciones**

Las vacas recibieron alimentación basada en la combinación de forraje (chala chocleada) y concentrado (en función de la fase de lactación y cantidad de leche producida), todas las vacas recibieron el mismo programa de alimentación.

En lo que respecta al manejo, todas las vacas recibieron el manejo convencional basado en el aprovisionamiento de alimento en horas determinadas del día; ordeño mecánico dos veces al día; supervisión de la condición corporal y del estado de salud, etc.

En cuanto a instalaciones y equipo se contó con: Corrales de descanso de vacas en lactación. Brete para inseminación artificial. Equipo de inseminación artificial (tanque de nitrógeno, aplicador de semen, guantes de plástico, etc.) Libreta de campo, ordenador electrónico.

#### **3.5. Técnicas Experimentales**

Las vacas se evaluaron para descartar problemas de orden urogenital y se sirvieron en distintos momentos después de detectado el celo. A los 60 días se hizo el diagnóstico de preñez; en caso de repetir el celo se procedió al siguiente servicio. La diferencia entre

tratamientos con relación a los servicios que se hicieron, radicó en el empleo de semen de activación progresiva y el convencional.

Una vez que cualquiera de las vacas se observó en celo fue conducida a un corral aparte en el que se le preparaba para el servicio (limpieza, conducción al brete de inseminación, ligero descanso e inseminación artificial), en el caso de las vacas que fueron servidas con semen de activación progresiva el servicio se hizo, prácticamente, de inmediato; en tanto que para las vacas servidas con el semen convencional se aplicó el semen por la tarde si la vaca fue observada en celo por la mañana, si fue observada en celo al medio día se aplicó entrada la tarde y se le inseminó al día siguiente, temprano, si fue observada en celo por la noche.

En todos los casos el servicio se hizo por el mismo técnico inseminador. Para el caso del semen convencional se utilizó el semen procedente de tres sementales (Poseidón, Grego y Ninja) y el semen de activación progresiva procedente de dos sementales (Brick y Basquet).

La información fue analizada considerando el efecto de los siguientes factores:

- Tipo de semen: convencional y de activación progresiva.
- Grupos de edad: hasta el segundo parto y del tercero a posteriores partos.
- Sementales (tres dentro del semen convencional y dos dentro del semen de activación progresiva).

### **3.6. Parámetros Evaluados**

Se evaluó los siguientes parámetros:

- **Tasa de preñez**, %, [(cantidad de vacas preñadas/ cantidad de vacas servidas) x 100].
- **Servicios por preñez**, cantidad, (dosis de semen aplicadas para obtener una preñez).
- **Días abiertos** o **días vacíos**, tiempo transcurrido entre el parto y la fecha del servicio en que la vaca quedó preñada.

### 3.7. Análisis Estadístico

El planteamiento estadístico de hipótesis fue el siguiente:

$$H_0: T_1 = T_2$$

$$H_1: T_1 \neq T_2$$

Para el caso de las variables número de vacas preñadas y vacías, las hipótesis fueron contrastadas a través de la aplicación de la prueba de chi-cuadrado por asociación, la tasa de preñez por medios de prueba de proporciones, el número de servicios por preñez la prueba de t de student

La comparación entre tratamientos, para el período de días vacíos, se realizó primeramente la prueba de normalidad, luego se realizó la prueba de Kruskal y Walli, para comparación de medianas, también se realizó gráficos de cuadro de bigotes para comparar medianas y determinar valores atípicos. (Oestle, 1979; Scheffler, 1982) .  
Mediante el programa estadístico de MINITAB.

### **3.8. Aspectos Éticos**

Durante la ejecución de la presente investigación se mantuvo una actitud ética y de buen trato para con el personal y los animales que participaron directamente en ella. Tampoco hubo conflicto de intereses.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein mediante el uso de semen de microencapsulación para Activación progresiva y convencional.

*Tabla 1: Preñez y tasa de concepción de vacas Holstein servidas con semen de activación progresiva y convencional.*

Semen	Número de vacas servidas	Número de vacas preñadas	Tasa de concepción (%)
Activación Progresiva	52	34 a	65a
Convencional	49	21 b	43 b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (P<0.05)

El número de vacas preñadas y la tasa de concepción, según el semen utilizado en el servicio de inseminación artificial, no fueron similares (P<0.05, tabal 1, anexos 1 y 2). Siendo mejor el número de vacas preñadas y la tasa de concepción en las vacas que fueron inseminadas con semen tratado a través de la microencapsulación para una liberación progresiva (método de la activación progresiva), logrando 34 vacas preñadas de 52 vacas inseminadas, con una tasa de preñez del 65%. Las vacas que fueron inseminadas en forma convencional, es decir las que necesitan tener en cuenta el avistamiento de celo para la inseminación artificial, registraron de 49 vacas inseminadas, 21 vacas preñadas con una tasa de preñez del 43%.

Los indicadores reproductivos del número de vacas preñadas y de la tasa de concepción, muestran una ventaja para el grupo de vacas inseminadas con semen de activación progresiva, con una diferencia del 22% (65%-43%). Resultados que son respaldados por

lo manifestado por Weber et al (2006), Kusumaningrum et al (2015), Perteghella et al (2017), Alm-Kristiansen et al (2017), Berg et al. (2020); quienes concluyeron que con la micro encapsulación de los espermatozoides en el semen del toro puede constituir un camino prometedor en el incremento de la tasa de preñez mediante la inseminación artificial, cuyos procesos mejoran la viabilidad de los espermatozoides, sin efectos perjudiciales

Tasas de preñez de 41, 59.3 y 47.2% han sido reportados por Ansari-Lari et al. (2010), Khan et al. (2015) y Liu et al. (2018), respectivamente. Así mismo, Khan et al (2015), Indicaron mejoras en la tasa de concepción con el incremento del número de partos. Manifestando que el uso de semen de “activación progresiva” en el servicio de inseminación artificial en vacas en lactación Holstein, para mejorar el número de vacas preñadas y la tasa de concepción, son superiores a lo reportado por los diferentes investigadores e indica la conveniencia de su uso, lo que permitiría obtener mejor resultado económico en la explotación.

#### **4.2. Servicios por preñez en vacas Holstein mediante el uso de semen de microencapsulación para liberación de activación progresiva y convencional**

***Tabla 2: Servicios por preñez en vacas Holstein, mediante el uso de semen de activación progresiva y convencional***

<b>Semen</b>	<b>Número de vacas servidas</b>	<b>Media</b>	<b>Mediana</b>
<b>Activación Progresiva</b>	52	1.94±0.68	1.53 b
<b>Convencional</b>	49	2.95±1.15	2.30 a

**Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (P<0.01)**

No existió una distribución normal con del número de servicios por preñez (Tabla 2, anexo 3 Prueba de Kolmogórov-Smirnov  $P<0.01$ ). Indicando que la distribución del número de servicios por preñez no es la misma entre las vacas Holstein cuando se utilizó semen de activación progresiva comparado con el semen convencional ( $P<0.01$  - prueba de U de Mann-Whitney - anexo 4). Siendo mejor la mediana del número de servicios por preñez, el semen de activación progresiva registrando 1.53 pajillas por preñez, comparado con la mediana obtenida por el uso de semen convencional, quien necesita de 2.30 pajillas por preñez. Los datos obtenidos (semen de activación progresiva) son respaldados por lo manifestado por Gonzáles Stagnaro (1985), quien indica que una vaca debe quedar gestante con un servicio máximo con dos; que los resultados pueden verse influenciados por el semen utilizado Torres Chávez (2009).

Servicios por concepción similares al uso de semen de activación progresiva, obtenidos en el presente trabajo, fueron los logrados por Dinka (2012) y Khan et al. (2015), con 1.52 y 1.6 respectivamente; inferiores a los registrados por Türkyilmaz (2005) y Ansari-Lari et al. (2010), con 2.0 y 2.1, respectivamente. En tanto que Muller et al. (2018) reportó 2.55, cifra superior a la obtenida en este trabajo con semen convencional.

#### 4.3 Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, según el número de servicios con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional.

##### 4.3.1. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, al primer servicio con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional.

**Tabla 3: Preñez y tasa de preñez en vacas Holstein al primer servicio con semen de activación progresiva y convencional.**

Semen	Número de vacas servidas	Número de vacas preñadas	Tasa de preñez %
Activación Progresiva	38	26 a	68 a
Convencional	37	12 b	32 b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (P<0.05)

De un total de 75 vacas que fueron servidas por primera vez, 38 vacas fueron servidas con el método de inseminación artificial de activación progresiva, donde 26 vacas fueron preñadas logrando una tasa de preñez del 68%, superior ( $p<0.01$ ) a las 37 vacas que fueron servidas con semen convencional quienes registraron 12 vacas preñadas con el 32% de tasa de preñez (Tabla 3- anexos 5 y 6).

Resultado que es respaldado por lo manifestado por Nebel et al (1985), donde el uso del semen de activación controlada en el útero puede ampliar la fertilización de los espermatozoides, ampliando en el primer servicio en más del 100% de fertilización comparado con la IA convencional. Lo que permitiría obtener buenos resultados en la fertilidad sin el periodo restringido de horas antes de la ovulación, debido a que

prolongan el tiempo de vida de los espermatozoides in vivo después de la IA (Standerholen et al 2015). Manifestando que el 68% de tasa de preñez logrado en el presente trabajo de investigación, índice que refleja en forma objetiva la solución de problemas de fertilidad que se presentan en climas cálidos, como es la reducción de la longitud e intensidad del celo con una menor tasa de fertilidad.

#### 4.3.2. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, al segundo servicio con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional.

**Tabla 4: Preñez y tasa de preñez en vacas Holstein al primer servicio con semen de activación progresiva y convencional.**

Semen	Número de vacas servidas	Número de vacas preñadas	Tasa de preñez %
Activación progresiva	14	8 a	57 a
Convencional	11	8 a	73 a

**Letras similares en una misma columna indican similitud (P>0.5)**

En la tabla 4 se presentan el número de vacas que fueron servidas por dos veces, donde 14 vacas fueron servidas con el método de inseminación artificial de activación progresiva, donde 8 de ellas fueron preñadas representando un 57% de tasa de preñez, similar (P>0.05- anexos 7 y 8) a las 11 vacas que fueron servidas con el método de inseminación artificial convencional quienes registraron 8 vacas preñadas con una 73% de tasa de preñez. El número de vacas preñadas fue el mismo en ambos tratamientos, la diferencia es debido al número total de vacas servidas, lo que permite un mayor porcentaje de preñez, pero no significativo.

**4.3.3. Preñez y tasa de concepción en vacas Holstein, al Tercer servicio con semen de microencapsulación de liberación de activación progresiva y convencional.**

Solamente fue inseminada una vaca con semen convencional (tabla 5).

*Tabla 5: Preñez y tasa de preñez en vacas Holstein al tercer servicio con semen de activación progresiva y convencional.*

Semen	Número de vacas servidas	Número de vacas preñadas	Porcentaje (taza de preñez)
Activación progresiva	-	-	-
Convencional	1	1	100

**4.3. Días abiertos al servicio de las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional**

*Tabla 6 : Días abiertos de las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional*

Semen	Número de vacas preñadas	Promedio	Mediana
Activación progresiva	34	72.56±10.32	69.00 a
Convencional	21	73.48±13.71	69.00 a

Letras similares en una misma columna indican similitud (P>0.5)

Para calcular el período de días abiertos se consideró la fecha de parto y la fecha del último servicio; al determinar si los días abiertos de las vacas antes de la preñez, fueron diferentes en cada tratamiento al momento del uso de semen, primeramente, se determinó la normalidad, donde sus valores no tuvieron una normalidad (anexo 9-Kolmogórov-Smirnov). La distribución de los días abiertos en vacas lecheras Holstein al momento del uso de semen convencional y semen de activación progresiva es la misma en ambos grupos ( $P > 0.05$  prueba de U de Mann-Whitney para muestras independientes).

Los 69 días abiertos, obtenidas en el presente trabajo de investigación que es el periodo voluntario de espera, es respaldado Jiménez (2016) Gómez Velásquez (2020) y Francesa (2023), quien manifiesta que si las vacas están en promedio de producción, podrían preñarse entre los 45 a 60 días después del parto y, cuando más corto sea el periodo voluntario de espera se espera tener mayor proporción de vacas con intervalo de parto a parto con mayor número de lactaciones con mayor eficiencia.

La duración de este período es un indicador de la gestión del manejo reproductivo del rebaño. Debido a algunos problemas (metritis, pobre condición corporal de la vaca, falla del técnico inseminador, etc.) este período puede llegar a ser muy largo, lo que se reflejaría en un dilatado período de días en lactación (DEL), perdiendo la vaca la oportunidad de tener más campañas de por vida, con la consecuente menor obtención de picos de lactación que son los que permiten obtener mayor rentabilidad.

Sin embargo, los promedios obtenidos en esta investigación fueron considerablemente menores a los reportados por diferentes investigadores que trabajaron en diferentes

partes del mundo, con mejores y peores condiciones ambientales a las que se dieron en este trabajo; Así, Türkyilmaz (2005) reportó una media de 114.5, Ansari-Lari et al. (2010) de 134, Dinka (2012) de 85.6 y Muller et al. (2018) de 134.7 días abiertos. En consecuencia, se puede afirmar que los valores obtenidos para esta variable son muy buenos y que reflejan, de alguna manera, la eficiencia en el manejo reproductivo del ganado.

El período de días vacíos (abiertos) es una variable importante para evaluar el comportamiento reproductivo de las vacas lecheras, toda vez que la gestación es, prácticamente, una constante los días vacíos constituyen el determinante fundamental en la longitud del intervalo entre partos. Con intervalos entre partos más largos las vacas tendrán menos campañas por vida productiva y, en consecuencia, menor producción y menos ingresos económicos para la empresa, además de menos reemplazos y menos posibilidades de saca y el consecuente menor progreso genético productivo. Kim y Jeong (2019) determinaron que una extensión de 81 días en el período de días vacíos en las vacas que no preñaron en comparación con las que, si lo hicieron en el primer servicio, ocasionó un gasto adicional de \$55.40 en tratamiento médico reproductivo y \$567 en manejo, lo que evidencia la importancia económica de buscar eficiencia reproductiva al máximo, implicando que las vacas sean preñadas con un servicio.

**4.4. Número de partos de las Vacas Holstein preñada con semen de activación progresiva y convencional**

**Tabla 7: Efecto del número de partos de las vacas Holstein que fueron preñadas con semen de activación progresiva y convencional**

<b>Semen</b>	<b>Partos</b>	<b>Número de vacas preñadas</b>
<b>Activación progresiva</b>	<b>1 a 2</b>	18 a
	<b>2 a 3</b>	16 a
<b>Convencional</b>	<b>1 a 2</b>	11 a
	<b>2 a 3</b>	10 a

**Letras similares en una misma columna indican similitud ( $P > 0.5$ )**

No existió diferencia ( $P > 0.05$  chi cuadrado anexo 11) entre vacas preñadas, cuando se utilizó en la inseminación artificial pajillas con semen de toro con activación progresiva y convencional, según el número de partos (de 1 a 2 y más de 3 partos), observándose en la tabla 6 que la efectividad de la reproducción en vacas preñadas, la distribución de las vacas según el número de partos es similar.

#### 4.5. Efectividad en vacas Holstein, preñadas y vacías, según el semen del toro utilizado en la activación progresiva y convencional

*Tabla 8: Efectividad en vacas preñadas y vacías según el toro utilizado en la activación progresiva y convencional*

Nombre del toro	Tipo de pajuela	Preñada		Vacía		Total
		Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	
Basket	Activación progresiva	8	53	7	47	15
Brick	Activación progresiva	26	70	11	30	37
Grego	Convencional	8	73	3	27	11
Ninja	Convencional	4	31	9	69	13
Poseidón	Convencional	9	36	16	64	25

Para el servicio de inseminación artificial con semen de los dos toros utilizados en la activación progresiva fueron similares ( $P>0.05$ -Chi cuadrado), registrando una mayor cantidad de utilización en el servicio de inseminación artificial el Toro Brick (37) con una mayor tasa de preñez (70%). Comparado con el toro Basket, quien registró 15 inseminaciones con un 53% de tasa de preñez (tabla 7- anexo 9-10)

En cuanto de la efectividad de los tres toros utilizados en el servicio de inseminación artificial de forma convencional fueron diferentes ( $P<0.10$ ), teniendo mayor efectividad el toro Grego con el 73% de preñez (Tabla 7; anexo 14)

Si bien las diferencias no alcanzaron significación estadística, se notó alguna diferencia interesante en el comportamiento de los sementales; por ejemplo, dentro del grupo del semen convencional, con el semental Poseidón se empleó entre 25 y 30% de menos

dosis para lograr una preñez en comparación con los sementales Grego y Ninja. Dentro del grupo de semen enriquecido, con Brick se logró 14% menos dosis de semen para lograr una preñez, en comparación con Básquet. Es posible que estas diferencias no sean estadísticamente significativas, pero si económicamente, sobre todo considerando rebaños grandes y el precio de cada dosis, como ha sido enfocado en la investigación de Kim y Jeong (2019).

Para lograr eficiencia reproductiva se requiere que muchos de los factores que la afectan negativamente puedan ser controlados o neutralizados, uno de los más influyentes es la condición corporal de la vaca después del parto y hasta que se logra el pico de lactación. Este es precisamente el período más complicado para la vaca lechera, toda vez que se encuentra estresada como consecuencia del parto y porque empezará a producir leche en cantidades cada vez mayores lo que, en condiciones naturales debería servir para asegurar la alimentación y sobrevivencia de su cría pero que los humanos hemos aprovechado en forma comercial, le exige movilización importante de nutrientes de sus reservas corporales; en una situación en la que su consumo está deprimido debido a factores fisiológicos y anatómicos.

Esta situación hace que la calificación de la condición corporal (CCC) tienda a caerse, en consecuencia, el organismo de la vaca no dispondrá de mayores reservas nutricionales para afrontar una preñez sucesiva. Esto ha sido referenciado por Kim y Jeong (2019) quienes indican que la CCC, en una escala de 1: muy delgada a 5: muy gorda, no debería ser inferior a 3 si se desea que la vaca vuelva a preñar. En el presente trabajo de investigación se determinó que la apreciación de la condición corporal del ganado fue

buena, razón por la que el comportamiento de los indicadores evaluados pudo depender más de las particularidades del tipo de semen que de las del ganado.

La conveniencia de la utilización del semen de activación progresiva se sustenta en que no se pierde tiempo importante entre la detección de la vaca en celo y su respectivo servicio. El hecho de haberle denominado como semen de “activación progresiva” se sustenta en la encapsulación con alginato permite una activación y liberación progresiva (Perteghella et al., 2017), sin afectarse la capacidad fertilizante ya que el proceso permite mejorar y es más eficiente la conservación de la calidad del esperma después de la congelación y mayor viabilidad de los espermatozoides debido a que se conserva la integridad del acrosoma (Alm-Kristiansen et al., 2017). Así mismo, se ha determinado que el gel empleado en el semen tratado con este proceso se ha detectado en el útero a las 3, 6, 20 y 24 horas después del servicio corroborando las apreciaciones de alta motilidad y viabilidad de los espermatozoides (Berg et al., 2020). Por estas razones, se han obtenido, al menos, los mismos resultados de fertilidad de los espermatozoides en comparación a los espermatozoides contenidos en semen tratado por el procedimiento convencional (Standerholen et al., 2015).

Se puede asumir que la economía de la empresa ganadera lechera puede verse robustecida con el empleo de este tipo de semen, toda vez que las vacas dispondrían de mayores lactaciones por vida productiva, asociadas a más picos de lactación, entre otros aspectos.

## V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se realizó la presente investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

1. La tasa de concepción al primer servicio fue de 68% para el método de inseminación artificial de activación progresiva y de 32% para el método de inseminación artificial convencional ( $P < 0.05$ ).
2. La Concepción total fue de 65% en el método de inseminación artificial de activación progresiva y de 43% en el método de inseminación artificial convencional ( $P < 0.05$ )
3. El número de servicios por preñez en el método de inseminación artificial de activación progresiva de 1.53 pajillas por concepción, de 2.30 pajillas por concepción para el método de inseminación artificial convencional ( $P < 0.01$ )
4. La cantidad de días abiertos en vacas antes del servicio de la inseminación artificial y que fueron preñadas, fueron similares en ambos tratamientos ( $P > 0.05$ )
5. El número de vacas preñadas fueron similares ( $P > 0.05$ ) entre las vacas de 1 a 2 partos con las vacas de más de 3 partos, en ambos métodos de inseminación artificial.
6. No hubo diferencia significativa en el “número de servicios por preñez” entre sementales, dentro de cada tipo de semen; sin embargo, los sementales con semen de activación progresiva tendieron a mostrar menos servicios por preñez.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

Alm-Kristiansen, A. H., Gaustad, E. R., Bai, G., Standerholen, F. B., Klinkenberg, G., Kommisrud, E., & Waterhouse, K. E. (2017). In vitro studies of Norwegian Red bovine semen immobilized and cryopreserved in alginate solid gel network. . *Alm-Kristiansen, A. H.; Gaustad, E. R.; Bai, G.; Standerholen, F. B.; Klinkenberg, G.; Kommisrud, E.; Waterhouse, K. E. (2017). In vitro studies of NorReproduction in Dom, 1-6.*

Aniruddha Bagchi, E. (2014). Criopreservación y vitrificación: avances recientes en tecnologías de preservación de la fertilidad. *Revista experta en dispositivos médicos Review*, 359-370.

Ansari-Lari, M., Kafi, M., Sokhtanlo, M., & Ahmadi, H. N. (2010). Reproductive performance of Holstein dairy cows in Iran. *Ansari-Lari, M., Kafi, M., Sokhtanlo, M., and Ahmadi, H. N. (2010). Reproductive pe Trop. Anim. Health Prod., 42: , 1277-1283.* DOI:10.1007/s11250-010-9561-.

Banos, G., & Coffey, M. P. (2010). Genetic association between body energy measured throughout lactation and fertility in dairy cattle *Animal*. Banos, G. and Coffey, M. P. (2010). Genetic association between body energy me 4(2): 189-199. Doi:10.1017/S1751731109991182.

Bell, S. (2004). *The Facts on File Dictionary of Forensic Science*. New Yorck: Library of Congress Cataloging in Publication Data.

- Berg Standerholen, F., Waterhouse, K. E., Larsgård, G., Guro, R. T., Myromslien, F. D., Sunde, J., . . . Kommissrud, E. (2015). Uso de semen bovino criopreservado inmovilizado en un ensayo de inseminación artificial a ciegas. *Elsivier*, 413-420.
- Berg, H. F. (2020). Reproductive potential and quality of Sperm Vital Semen used for artificial insemination in cattle. *Berg, H. F. (2020). Reproductive potential and quality of Sperm Vital Semen used for a Ph. D. thesis. Department of Production Animal Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Norwegian University of Life Sciences.*
- Brito, L., Silva, A., Rodrigues, L., Vieira, F., Deragon, L., & Padtelicf, J. (2002). Efectos de factores ambientales, edad y genotipo sobre la producción de esperma y la calidad del semen en toros *Bos indicus* y *Bos taurus* AI en Brasil. *Ciencias de la Reproducción Animal*, 181-190.
- Correa-Calderon, A., des Santos, G., Avendaño, L., Rivera, G., Álvarez, D., Ardón, F., . . . Callier, R. (2009). Enfriamiento artificial y tasa de concepción de vaquillas Holstein con estrés térmico. *Arch. Zootec.*, 58 (222): 231-239.
- Dinka, H. (2012). Reproductive performance of crossbred dairy cows under smallholder condition in Ethiopia. . *International Journal of Livestock Production*, 3(3): 25-28. DOI: 10.5897/IJPLM.055.
- Foote, R. H., Brockett, C., & Kaproth, M. T. (2002). Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender containing antioxidants. *Animal Reproduction Science*, 71, 13-23.
- Francesa, H. (2023). ¿Cuándo se lograría mayor éxito con periodo de espera voluntario? *Contexto ganadero*.

- Gómez Elías, M. D. (2019). Estudios funcionales y moleculares sobre la regulación de la capacidad fertilizante del espermatozoide y la activación del ovocito. *Tesis para optar el título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de Química Biológica*.
- Gómez Velásquez, C. A. (2020). El Período de espera voluntario depende incluso de cada vaca. *Contexto ganadero*.
- Gómez, D. (2019). Estudios funcionales y moleculares sobre la regulación de la capacidad fertilizante del espermatozoide y la activación del ovocito. *Tesis para optar el Título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Química Biológica*.
- González Stagnaro, C. (1985). Evaluación de la eficiencia reproductiva en hatos lecheros. *IV Congreso Venezolano de Zootecnia . Taller Eficiencia Reproductiva. Universidad de Zulia . Facultad de Agronomía . Fisiología de la Reproducción. Departamento de Agronomía*.
- Holt, W. V. (2000). Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science*, 3-22.
- Holt, W. V. (2000). Fundamental aspects of sperm cryobiology: The importance of species and individual differences. *Theriogenology*, 47-58.
- Isachenko, V., Isanchenko, E., Kstkov, Í. L., Montag, M., Dessole, S., Nawroth, F., & Van der Vent, H. (2004). Criopreservación sin crioprotectores de espermatozoides humanos mediante vitrificación y congelación en vapor: efecto sobre la motilidad, la integridad del ADN y la capacidad de fertilización. *Biology or Reproduction*, 71(1), 1167-1173.
- Jiménez, A. (2016). Propuesta de una fórmula voluntaria práctica para calcular el período de espera voluntario ideal. *Portal Veterinaria*.

- Juan de Paz, L., Robert, M. C., Graf, D. A., Elvio, G. E., & Rodriguez, J. V. (2015). Design Of A Simple Slow Cooling Device For Cryopreservation Of Small Biological Samples . *CryoLetters*, 363-371.
- Khan, M. R., Uddin, J., & Gofur, R. (2015). Effect of age, parity and breed on conception rate and number of services per conception in artificially inseminated cows. *Bangladesh Livestock Journal*, 1: 1 – 4. ISSN 2409-7691.
- Kim, I. H., & Jeong, J. K. (2019). Risk factors limiting first service conception rate in dairy cows and their economic impact. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 31(4): 519-526.
- Kusumaningrum, D. A., Purwantra, B., Yusuf, T. L., & Situmorang, P. (2015). Micro encapsulation of bovine spermatozoa: Cryopreservation of micro encapsulation sperm using glycerol. *Indonesian Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 20(4), 233- 241.
- Layek, S., Mohanty, T., & Parque, J. (2016). Criopreservación de semen de toro: Evolución de diluyentes a base de yema de huevo a base de soja. *Ciencias de l Producción Animal*, 1-9.
- Liu, W.-B., Peh, H.-C., Wang, C.-K., Mangwe, M. C., Chen, C.-F., & Chiang, H.-I. o.-A. (2018). Effect of seasonal changes on fertility parameters of Holstein dairy cows in subtropical climate of Taiwan. . *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 31(6): 820.
- Luyet, B. J., & Hodapp, E. L. (1938). Reactivación de espermatozoides de rana vitrificados en aire líquido. *Biologia y Medicina Experimental. Sage Journals*, 39(3).

- Muller, C. J., Cloete, S. W., & Bothra, J. A. (2018). Fertility in dairy cows and ways to improve it. *South African Journal of Animal Science*, 48(5): 858-868. .
- Munkittrick, T. W., Neble, R., & Sacke, R. G. (1996). Números de espermatozoides accesorios para bovinos inseminados con microcápsulas de sulfato de protamina. *Revista de Ciencia Láctea*, 725-731.
- Nebel, R. L., B. J., Saacke, R. G., & Lim, F. (1985). Microencapsulation of bovine spermatozoa. *J. Anim. Sci.* 6, 0:1631–9. DOI: 10.2527/jas/985.6061631.
- Nebel, R., Vishwanath, M. R., McMillan, W., & Saacke, R. (1993). Microencapsulation of bovine spermatozoa for use in artificial insemination: a review. *Reproduction, Fertility and Development*, 701-702.
- Nebel, R., Vishwnath, R., McMillan, W., & Pit, C. (1996). Microencapsulation of bovine spermatozoa: effect of capsule membrane thickness on spermatozoal viability and fertility. *Animal Reproduction Science*, 79-89.
- Nicolaisen, H., & Hvidt, a. (1994). Phase Behavior of the System Trehalose-NaCl-Water. *Criobiology* , 199-205.
- Oestle, B. (1979). *Estadística Aplicada Limusa- México*.
- Pandolfi, S. (1996). Cryopreservation of micro encapsulated bovine spermatozoa. *Master of Science Thesis. Virginia Polytechnic Institute, Virginia State University USA*.
- Peris-Frau, P., Soler, A. J., Iniesta-Cuerda, M., Martín-Maestro, A., Sánchez-Ajofrín, I., Medina-Chávez, D. A., . . . Garde, J.-J. (2020). Sperm Cryodamage in Ruminants:

Understanding the Molecular Changes Induced by the Cryopreservation Process to Optimize Sperm Quality. *International Journal of Molecular Sciences*, 2-22.

Perteghella, S., Gaviraghi, A., S., G., Bornaghi, V., Galli, A., Crivelli, B., . . . Torre, M. (2017). Alginate encapsulation preserves the quality and fertilizing ability of Mediterranean Italian water buffalo (*Bubalus bubalis*) and Holstein Frisian (*Bos Taurus*) spermatozoa after cryopreservation. *Journal of Veterinary Science*, 81-88.

Polge, C., Smith, A., & Parkes, C. (1949). Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at Low Temperatures. *NATURE*, 164, 666.

Raheja, N., Choudhary, S., Grewal, S., Sharma, N., & Kumar, N. (2018). A review on semen extenders and additives used in cattle and buffalo bull semen preservation. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 239-245.

Risco, C. A., & Archibald, L. F. (2005). Eficiencia reproductiva del ganado lechero. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 1-5.

Sakaguchi, M. ((2011). Practical aspects of the fertility of dairy cattle. . *Practical aspect Journal of Reproduction and Development*, 57(1): 17-33. DOI: 10.1262/jrd.10-197e.

Sandoval Monzon, R. S., Ruíz García, L. F., & Carcelén Cáceres, F. D. (2017). Determinación de la Tasa de Servicio y de los Factores que la Afectan en Establos de Lechería Intensiva de Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú*, 28(2): 314-326.

Sandoval Suclupe, D. N. (2022). Tasa de concepción con espermatozoides de activación progresiva en vacas cruzadas Holstein x Brown Swiss. *Tesis Presentada para optar el Título*

*de Ingeniero Zootecnista, Facultad de Ingeniería Zootecnia, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo.*

Scheffler, E. (1982). Bioestadística. *Fondo Educativo Interamericano EE.UU. de N.A.*

Sepulveda, N., & Rodero, E. (2003). Comportamiento sexual durante el estro en vacas lecheras. *Interencia Scielo.*

Standerhole, F. B., Waterhouse, K. E., Larsgard, A. G., Garmo, R. T., Myromslien, F. D., Sunde, J., . . . Kammsrud, E. (2015). Use of immobilized cryopreserved semen in a blind artificial insemination trial. *Theriuogenology*, 84, 413-420.

Torres Chávez, L. L. (2009). Efecto de la administracion de Cloprostenol Sodico sobre la tasa de concepción en vacas lecheras. *tersis para el Título de Médico Veterinario, Universidad Mayor de San Marcos.*

Turkylmaz, M. K. (2020). Reproductive characteristics of Holstein cattle reared in a private dairy cattle enterprise in Aydin. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 29, 1049-1052.

Vasquez Requena, Á. G., Sessarego Dávila, E. A., Lavalle Peña, G. F., & Tello Alarcón, V. I. (2017). Influencia del Sistema de Enfriamiento sobre la Productividad del Ganado Bovino Lechero en el Valle de Huaura, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.*

Viotii, G. (2011). Procesamiento de Semen bovino para la inseminación artificial. *Tesis de grado para Doctorado en Ciencias Veterinarias .*

Vishwanath, R., & Shannon, P. (1997.). ¿Envejecen los espermatozoides?. Una revisión de los cambios fisiológicos en los espermatozoides durante el almacenamiento a temperatura

ambiente. *Reproduction, Fertility and Development. Ciencia y tecnología reproductiva de los vertebrados*, 321-332.

Vishwanath, R., & Shannon, P. (2000). Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Animal Reproduction Science* , 62, 23-53.

Weber, W., Rimann, M., Schafroth, T., Witschi, U., & Fussengger, F. (2006). Design of high-throughput-compatible protocols for microencapsulation, cryopreservation and release of bovine spermatozoa. *Journal of Biotechnology*, 155-163.

Yeste, M. (2016). Sperm cryopreservation update: Cryodamage, markers, and factors affecting the sperm freezability in pigs. *Theriogenology*, 47-64.

Yeste, M., Rodriguez-Gil, J. E., & Bonet, S. (2017). Inseminación artificial con semen de Cerdo congelado. *Molecular Reproduction Development*, 1-12.

Zonis, R. M. (2020). Development of an automated microfluidic system for the loading and unloading of cryoprotectants from mammalian oocytes. *Submitted to the Department of Mechanical Engineering on May 15, 2020, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master's of Science in Mechanical Engineering*, 1-112.

## ANEXOS

*Anexo 1: Prueba de chi-cuadrado de preñez entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.*

		Preñada	Vacía
Activación Progresiva	<i>Conteo</i>	34	18
<i>Conteo esperado</i>		28.32	23.68
Convencional	<i>Conteo</i>	21	28
<i>Conteo esperado</i>		26.68	22.32

### Prueba de chi-cuadrada

	Chi-cuadrada	GL	Valor p
Pearson	5.162	1	0.023
Relación de verosimilitud	5.204	1	0.023

*Anexo 2: Prueba e IC para dos proporciones de la tasa de concepción entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional*

### Método

$p_1$ : proporción donde Activación Progresiva = Evento

$p_2$ : proporción donde Convencional = Evento

Diferencia:  $p_1 - p_2$

### Estadísticas descriptivas

Muestra	N	Evento	Muestra p
Activación Progresiva	52	34	0.653846 (65%)
Convencional	49	21	0.428571 (43%)

### Estimación de la diferencia

Diferencia	IC de 95% para la diferencia
0.225275	(0.035751, 0.414799)

*IC basado en la aproximación a la normal*

### Prueba

Hipótesis nula	$H_0: p_1 - p_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: p_1 - p_2 \neq 0$	
Método	Valor Z	Valor p
Aproximación normal	2.33	0.020
Exacta de Fisher		0.029

### *Anexo 3: Prueba de normalidad del número de servicios por preñez entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional*

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
	Estadístico	gl	Sig.
Número de Servicios por Preñez	0,281	101	0,000

Rechazamos la hipótesis nula, concluyendo que no existe normalidad en el número de servicios por preñez.

### *Anexo 4: Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes del número de servicios por preñez entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional*

***H<sub>0</sub>***: La distribución de Número de servicios por Preñez es la misma entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional

***H<sub>a</sub>***: La distribución de Número de servicios por Preñez no es la misma entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.

## Resumen de prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes

N total	101
U de Mann-Whitney	2030,000
W de Wilcoxon	3255,000
Estadístico de prueba	2030,000
Error estándar	139,126
Estadístico de prueba estandarizado	5,434
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0,000

*Anexo 5: Prueba de chi-cuadrado entre vacas Holstein al primer servicio, inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional.*

**Filas: Diagnóstico de Preñez Columnas: Tipo de Pajuela**

	<b>Activación progresiva</b>	<b>Convencional</b>
Preñada <i>Conteo</i>	26	12
<i>Conteo esperado</i>	19.25	18.75
Vacía <i>Conteo</i>	12	25
<i>Conteo esperado</i>	18.75	18.25

### Prueba de chi-cuadrada

	<b>Chi-cuadrada</b>	<b>GL</b>	<b>Valor p</b>
Pearson	9.714	1	0.002
Relación de verosimilitud	9.935	1	0.002

**Anexo 6: Prueba e IC para dos proporciones de la tasa concepción al primer servicio, entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional**

**Método**

$p_1$ : proporción donde Activación Progresiva = Evento

$p_2$ : proporción donde Convencional = Evento

Diferencia:  $p_1 - p_2$

**Estadísticas descriptivas**

Muestra	N	Evento	Muestra p
Activación Progresiva	38	26	0.684211(68%)
Convencional	37	12	0.324324(32%)

**Estimación de la diferencia**

Diferencia	IC de 95% para la diferencia
0.359886	(0.148713, 0.571059)

*IC basado en la aproximación a la normal*

**Prueba**

Hipótesis nula  $H_0: p_1 - p_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: p_1 - p_2 \neq 0$

Método	Valor Z	Valor p
Aproximación normal	3.34	0.001
Exacta de Fisher		0.003

**Anexo 7: Prueba de chi-cuadrado entre vacas Holstein al segundo servicio, inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional**

**Filas: Tipo de Pajuela Columnas: Diagnóstico de Preñez**

		<b>Preñada</b>	<b>Vacía</b>
Activación progresiva		8	6
<i>Conteo</i>			
	<i>Conteo</i>	8.960	5.040
<i>esperado</i>			
Convencional		8	3
<i>Conteo</i>			
	<i>Conteo</i>	7.040	3.960
<i>esperado</i>			

**Prueba de chi-cuadrada**

	<b>Chi-cuadrada</b>	<b>GL</b>	<b>Valor p</b>
Pearson	0.649	1	0.420
Relación de verosimilitud	0.659	1	0.417

*1 celda(s) con conteos esperados menores que 5.*

**Anexo 8: Prueba e IC para dos proporciones de la tasa de concepción para dos servicios entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional**

**Método**

p<sub>1</sub>: proporción donde Activación Progresiva = Evento

p<sub>2</sub>: proporción donde Convencional = Evento

Diferencia: p<sub>1</sub> - p<sub>2</sub>

**Estadísticas descriptivas**

<b>Muestra</b>	<b>N</b>	<b>Evento</b>	<b>Muestra p</b>
Activación Progresiva	14	8	0.571429(57%)
Convencional	11	8	0.727273 (73%)

### Estimación de la diferencia

Diferencia	IC de 95% para la diferencia
-0.155844	(-0.525256, 0.213568)

*IC basado en la aproximación a la normal*

### Prueba

Hipótesis nula	$H_0: p_1 - p_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: p_1 - p_2 \neq 0$	
Método	Valor Z	Valor p
Aproximación normal	-0.83	0.408
Exacta de Fisher		0.677

*La aproximación normal puede ser inexacta para muestras pequeñas.*

### ***Anexo 9: Normalidad de Días Abiertos entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional***

Pruebas de normalidad			
	Kolmogórov-Smirnov		
	Estadístico	gl	Sig.
Días abiertos	0,238	55	0,000

**Anexo 10: Prueba de U de Mann-Whitney de muestras independientes de Días Abiertos entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional**

**Resumen de contrastes de hipótesis**

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Días abiertos es la misma entre las vacas Holstein inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	0,775	Conserve la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,050.

<b>Resumen de prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes</b>	
N total	55
U de Mann-Whitney	373,500
W de Wilcoxon	968,500
Estadístico de prueba	373,500
Error estándar	57,632
Estadístico de prueba estandarizado	0,286
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0,775

*Anexo 11: Prueba de chi-cuadrado entre vacas Holstein según el número de partos (1 a 2 partos y más de 3 partos) inseminadas con semen de activación progresiva y con semen convencional*

**Prueba chi-cuadrada para asociación: No de Partos, Resultado**

**Filas: N° de Partos Columnas: Resultado**

	<b>Preñada Activación Progresiva</b>	<b>Preñada Convencional</b>	<b>Todo</b>
1 a 2 partos	18 17.93	11 11.07	29
3 a más partos	16 16.07	10 9.93	26
Todo	34	21	55

*Contenido de la celda  
Conteo  
Conteo esperado*

**Prueba de chi-cuadrada**

	<b>Chi- cuadrada</b>	<b>Valor GL p</b>
Pearson	0.002	1 0.968
Relación de verosimilitud	0.002	1 0.968

*Anexo 12: Prueba de chi-cuadrado con vacas Holstein según el toro utilizado en la inseminación con semen de activación progresiva y con semen convencional*

	<b>Greco</b>	<b>Ninja</b>	<b>POSEIDON</b>	<b>Todo</b>
<b>Preñada</b>	8	4	9	21
<b>Vacía</b>	3	9	16	28
<b>Todo</b>	11	13	25	49

**Prueba de chi-cuadrada**

	<b>Chi-cuadrada</b>	<b>GL</b>	<b>Valor p</b>
Pearson	5.263	2	0.072
Relación de verosimilitud	5.315	2	0.070

*Anexo 13: Prueba de chi-cuadrado con vacas preñadas y no preñadas según el toro utilizado en la inseminación con semen de activación progresiva*

	<b>Preñada</b>	<b>Vacía</b>
BASKET	8 9.808	7 5.192
BRICK	26 24.192	11 12.808

**Prueba de chi-cuadrada**

	<b>Chi- cuadrada</b>	<b>GL</b>	<b>Valor p</b>
Pearson	1.353	1	0.245
Relación de verosimilitud	1.323	1	0.250